

MORFOANATOMIA DO ENVOLTÓRIO SEMINAL DE ESPÉCIES BRASILEIRAS DE *INDIGOFERA* L. (LEGUMINOSAE, PAPILIONOIDEAE)

Simone de Pádua Teixeira¹ & Vani Maria Alves Corrêa²

RESUMO

(Morfo-anatomia do envoltório seminal de espécies brasileiras de *Indigofera* L. (Leguminosae, Papilionoideae)) O grande número de espécies e a complexidade do gênero *Indigofera* geram controvérsias taxonômicas de difícil resolução. Para contribuir com a taxonomia do gênero, foram levantados caracteres diagnósticos do envoltório seminal de sete espécies brasileiras de *Indigofera*, utilizando técnicas de exame de superfície e histológicas. As sementes são pequenas, em sua maioria rombóides mas também eúbicas ou cilíndricas, variando de verde-claras a castanho-escuras, exotestais, albuminosas, com hilo mediano, circular a ovado, de coloração conspícua. O envoltório apresentou microescultura micro a macrorreticulada, sendo constituído por macroesclereídes (com conteúdo fenólico em cinco espécies) e osteosclereídes. Embora a anatomia do envoltório da semente não tenha apresentado diferenças marcantes entre as espécies, a combinação de caracteres provenientes da microescultura da superfície seminal, da forma e do tamanho do hilo e da semente, e do número de camadas de osteosclereídes, permitiu a identificação das espécies estudadas neste trabalho. Foi concluído que a anatomia é uma ferramenta bastante útil para subsidiar a taxonomia do gênero.

Palavras-chave: Anatomia, microscopia eletrônica de varredura, microescultura, taxonomia, testa, semente.

ABSTRACT

(Seed-coat morphology and anatomy of Brazilian species of *Indigofera* L. (Leguminosae, Papilionoideae)) The large number of species and the complexity of the genus *Indigofera* have lead to difficult delimitation between species. In order to contribute towards the taxonomy of the genus, diagnostic characters of the seed coat of seven Brazilian species of *Indigofera* with the utilization of surface examination and histological techniques were explored. Seeds are small, mostly rhomboid but sometimes euboid or cylindrical, light greenish to dark brownish, exo-testal, albuminous, with medium-sized, circular to ovate, conspicuously colored hilum. Seedcoat has micro to macroreticulate microsculpture, phenolic macroscleireids and osteosclereids. Although considerable differences among the seedcoat anatomy within species was not found, it was possible to identify the species with basis on the combination of characters from seed coat microsculpture, both shape and size of the hilum and seeds, as well as the number of layers of osteosclereids. It is concluded that anatomy is a useful tool to set taxonomical patterns within *Indigofera*.

Key words: Anatomy, seed coat microsculpture, scanning electron microscopy, taxonomy, testa, seed.

INTRODUÇÃO

Indigofera é o terceiro maior gênero de Leguminosae, constituído por cerca de 700 espécies, distribuídas pelos trópicos e subtropicais, sendo na maior parte representadas por plantas herbáceas e subarborescentes (Polhill 1981, Schrire 2005), anuais (Mairapetyan *et al.* 1986, Aziz & Khan 1993) ou perenes, eretas ou prostradas (Burkart 1942). Muitas espécies de *Indigofera* estão representadas na flora sul-americana, sendo que no Brasil foram listadas onze espécies (Bentham 1859), com ocorrência registrada para

campos limpos, campos rupestres, cerrados e em áreas abertas, principalmente em ambientes perturbados (Moreira & Tozzi 1997). A este gênero pertence a espécie popularmente conhecida como "Índigo" (*I. tinctoria*), cuja tintura apresenta grande valor na indústria têxtil. Esta espécie tem sido estudada ainda quanto ao teor de rotenóides na semente, apresentando toxicidade para a larva do mosquito *Anopheles stephensi*, transmissor da malária (Kamal & Mangla 1993). Outras espécies com propriedades farmacológicas, como por exemplo *I. spicata*, *I.*

Artigo recebido em 07/2006. Aceito para publicação em 03/2007.

¹Universidade de São Paulo, Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Departamento de Ciências Farmacêuticas, Av. do Café, s/n, 14040-903, Ribeirão Preto, SP, Brasil. spadua@fcfrp.usp.br

²Universidade de São Paulo, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Departamento de Biologia Celular e Molecular e Bioagentes Patogênicos, Av. Bandeirantes, 3900, 14049-900, Ribeirão Preto, SP, Brasil.

suffruticosa e *I. truxillensis* (Souza *et al.* 1988, Garcez *et al.* 1989), ocorrem no Brasil e são conhecidas popularmente por "Anileira".

O grande número de espécies que compõem o gênero *Indigofera* (Lewis 1987) dificulta a realização de trabalhos de revisão taxonômica, restringindo as informações a regiões fitogeográficas, como por exemplo, a listagem de *Indigofera* do sudeste da Ásia (Kort & Thijssse 1984). A regionalização dos estudos, por outro lado, acarreta problemas na delimitação taxonômica das espécies e, assim, estas apresentam muitos sinônimos, a maioria estabelecida apenas com base em trabalhos de morfologia externa. As espécies são muito semelhantes morfologicamente (Moreira & Tozzi 1997, Lewis 1987) e, muitas vezes, sinonimizadas com base em poucos caracteres de morfologia externa, como é o caso de *I. microcarpa* e *I. sabulicola* (sinonimizadas por Leon & Alain 1951).

Tais problemas taxonômicos dificultam a identificação das espécies de *Indigofera* e,

conseqüentemente, sua utilização na agronomia, fitoterapia e recuperação de áreas degradadas de cerrado, formação vegetacional onde é registrada a maioria das espécies brasileiras deste gênero (Moreira & Tozzi 1997).

Baseando-se no fato de que a morfologia do envoltório seminal é de grande valor para estudos taxonômicos e evolutivos (Plaza *et al.* 2004, Zeng *et al.* 2004), em especial para a família Leguminosae (Javadi & Yamaguchi 2004), este trabalho se propôs a estudar o valor taxonômico de caracteres provenientes do envoltório seminal de espécies brasileiras de *Indigofera*, utilizando técnicas de exame de superfície e histológico, a fim de adicionar dados que contribuam com trabalhos taxonômicos e filogenéticos do gênero.

MATERIAIS E MÉTODOS

Sementes de sete espécies brasileiras de *Indigofera* foram analisadas a partir de materiais herborizado e vivo, listados na Tabela 1.

Tabela 1 - Amostras obtidas de materiais de herbário e vivo de espécies de *Indigofera*.

Espécie	Material de herbário	Material vivo
<i>Indigofera asperifolia</i> Bong.	BRASIL. MATO GROSSO: Poconé, 26.II.1982, N. Cunha 4717 (UEC)	
<i>Indigofera bongardiana</i> (Kuntze) Burk.	BRASIL. SÃO PAULO: Moji-Guaçu, 9.VII.1961, Rizzini s.n. (RB 110339)	
<i>Indigofera campestris</i> Bong.	BRASIL. SÃO PAULO: Campinas, 03.X.1977, Leitão Filho 613 (UEC); São Paulo, 1.VII.1977, Goes 20 (UEC)	Cultivada em Ribeirão Preto/SP (SPFR 9926)
<i>Indigofera guaranitica</i> Hassl.	BRASIL. SÃO PAULO: Buritizal, 14.IV.1981, Leitão Filho 12485 (UEC)	
<i>Indigofera lespedezioides</i> Kunth.	BRASIL. SÃO PAULO: Jales, 17.I.1950, W. Hoehne s.n. (UEC 50910); MINAS GERAIS: Frutal, 18.IV.1978, Semir 7394 (UEC)	Cultivada em Ribeirão Preto/SP (SPFR 9927)
<i>Indigofera microcarpa</i> Desv.	BRASIL. BAHIA: Feira de Santana, s/data, Nunes 540 (HUEFS); MATO GROSSO: Poconé, 27.VII.1980, Leitão Filho 11393 (UEC)	Lagoa do Abaeté, Salvador/BA (SPFR 8397); Fazenda Nhimirim, Corumbá/MS (SPFR 9928)
<i>Indigofera spicata</i> Forssk.	BRASIL. BAHIA: Itabuna, Anel Viário, 23.VIII.1996, Sartori 227 (UEC); Ilhéus, 29.XII.1981, Lewis s.n. (RB 221718)	Restinga da Praia da Tijuca, Rio de Janeiro/RJ (SPFR 7921); Campus da UFV, Viçosa/MG (VIC 17381)

As sementes foram separadas em duas partes: mantidas secas para utilização em microscopia eletrônica de varredura e embebidas por 24h para posterior fixação em FAA (Johansen 1940) e utilização em seções histológicas.

Para o exame das sementes em microscopia eletrônica de varredura, os materiais foram mantidos em sílica gel por 72h, montados em suportes metálicos, colados sobre fita adesiva de carbono e, então, cobertos com ouro em um metalizador Balzers SCD 050. As observações foram efetuadas em um microscópio eletrônico de varredura LEO 435 VP em 10 kv. Para as descrições da superfície da semente utilizou-se a terminologia adotada por Zeng *et al.* (2003) e para as descrições do envoltório seminal a terminologia de Corner (1951).

Lâminas permanentes foram obtidas de materiais fixados e também de materiais revertidos da herborização, após desidratação em série etílica, amolecimento em óleo Terpeniol, inclusão em parafina (Johansen 1940), seccionamento em série longitudinalmente (5 a 7 mm de espessura). Os cortes foram corados com azul de toluidina (O'Brien *et al.* 1964) e montados em resina sintética (Gerlach 1969). O reagente de PAS foi utilizado para a detecção de polissacarídeos neutros (O'Brien & McCully 1981) e a floroglucina acidificada para a detecção de lignina (Johansen 1940). Fotomicrografias com as devidas escalas foram obtidas nas mesmas condições ópticas, em um fotomicroscópio Leica DM 50.

A eficiência do método de inclusão de materiais herborizados foi testada por comparação naquelas espécies onde se obteve material fresco para fixação, e as sementes não apresentaram problemas na estrutura dos tecidos e na microescultura da sua superfície.

RESULTADOS

As sementes das espécies de *Indigofera* são pequenas (5–10 mm), rombóides (Figs. 1a, c, e, f), cúbicas (Fig. 1b) ou cilíndricas (Fig. 1d), de coloração variando de verde-claro a castanho escuro, com hilo mediano, circular (Figs. 2c, e,

f) a ovado (Figs. 2a, b, d), de coloração conspícua (Tab. 2). A coloração e o tamanho do hilo variaram entre as espécies (Tab. 2): hilos menores foram encontrados em *I. asperifolia* (Fig. 2a), *I. bongardiana* (Fig. 2b) e *I. microcarpa* (Fig. 2e); os maiores foram encontrados em *I. campestris* (Fig. 2e), *I. lespedezioides* (Fig. 2d) e *I. spicata* (Fig. 2f); *I. asperifolia*, *I. lespedezioides* e *I. microcarpa* apresentaram coloração enegrecida, enquanto as demais espécies apresentaram hilos mais claros. Os hilos de todas as espécies apresentaram uma fenda reta e ampla (Fig. 2), mas *I. bongardiana* (Figs. 1b, 2b), *I. guaranitica* e *I. microcarpa* (Fig. 2e) destacaram-se por apresentarem hilos mais profundos que os das demais espécies (Tab. 2).

A microescultura do envoltório seminal na região próxima ao hilo (Tab. 2) variou entre o microrreticulado (malhas com aproximadamente 4µm; maioria das espécies) (Figs. 2a, b, d, e) e o macrorreticulado (malhas maiores que 8µm) (Figs. 2c, f).

As sementes são anátropas, exotestais (Fig. 3) e albuminosas (Fig. 3b-d). O envoltório da semente é constituído por uma camada de macroesclereídes (Fig. 3) e duas a três de osteosclereídes (Tab. 2, Fig. 3). Tais células apresentaram paredes muito espessas e celulósicas, não lignificadas, como detectado pelos resultados positivo para o reagente de PAS e negativo para a floroglucina acidificada. Cutícula não foi evidenciada. Em *I. asperifolia* (Fig. 3a), *I. guaranitica* (Fig. 3b), *I. microcarpa* (Fig. 3c) e *I. lespedezioides* (Fig. 3d) foram observados macroesclereídes com conteúdo fenólico. Na região do hilo ocorreram duas camadas de macroesclereídes, seguidas por várias camadas de parênquima com paredes muito espessadas, não lignificadas, algumas vezes com conteúdo fenólico, grupos de traqueídes e uma camada de osteosclereídes. Os macroesclereídes e osteosclereídes originaram-se do tegumento externo do óvulo, sendo as células do tegumento interno colapsadas no decorrer do desenvolvimento do embrião (Fig. 3). O endosperma (Figs. 3b-d), PAS-positivo, persiste nas sementes adultas.

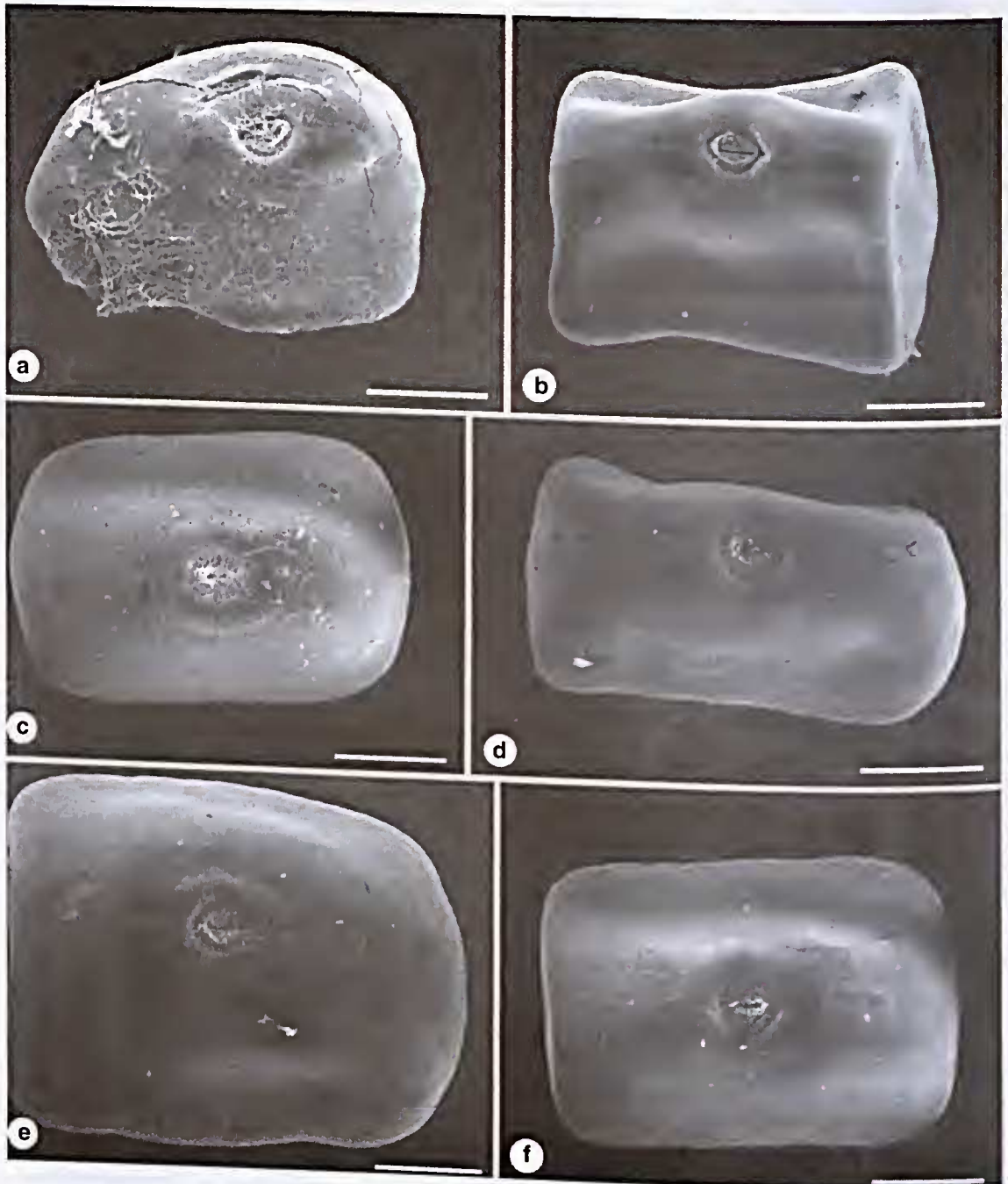


Figura 1 - Eletromicrografias (MEV) mostrando a forma de sementes de espécies de *Indigofera*. a. *I. asperifolia*. Semente rombóide. b. *I. bongardiana*. Semente cúbica. c. *I. campestris*. Semente rombóide. d. *I. guaranitica*. Semente cilíndrica. e. *I. lespedezioides*. Semente rombóide. f. *I. spicata*. Semente rombóide. Escalas = 500 μ m.

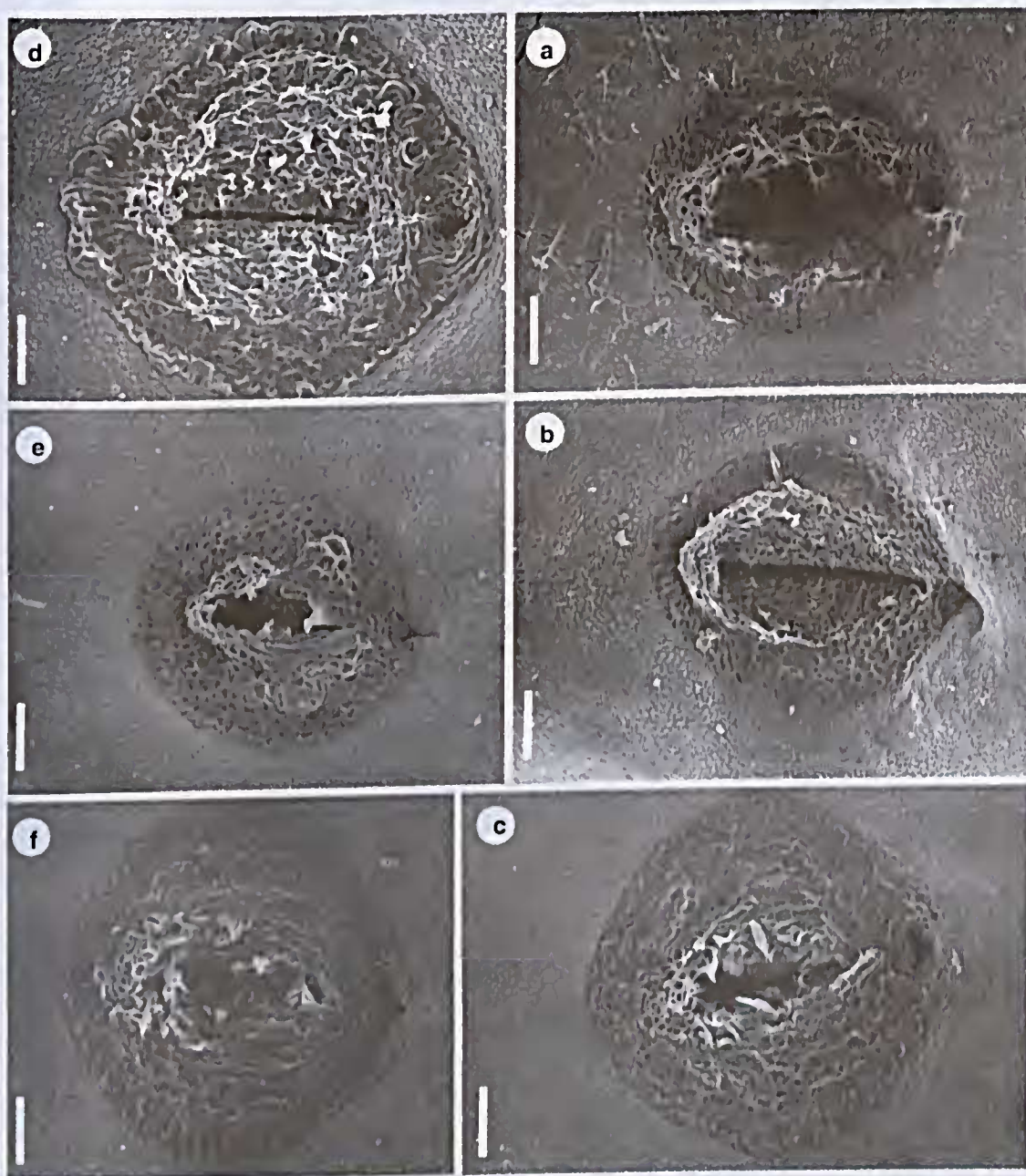
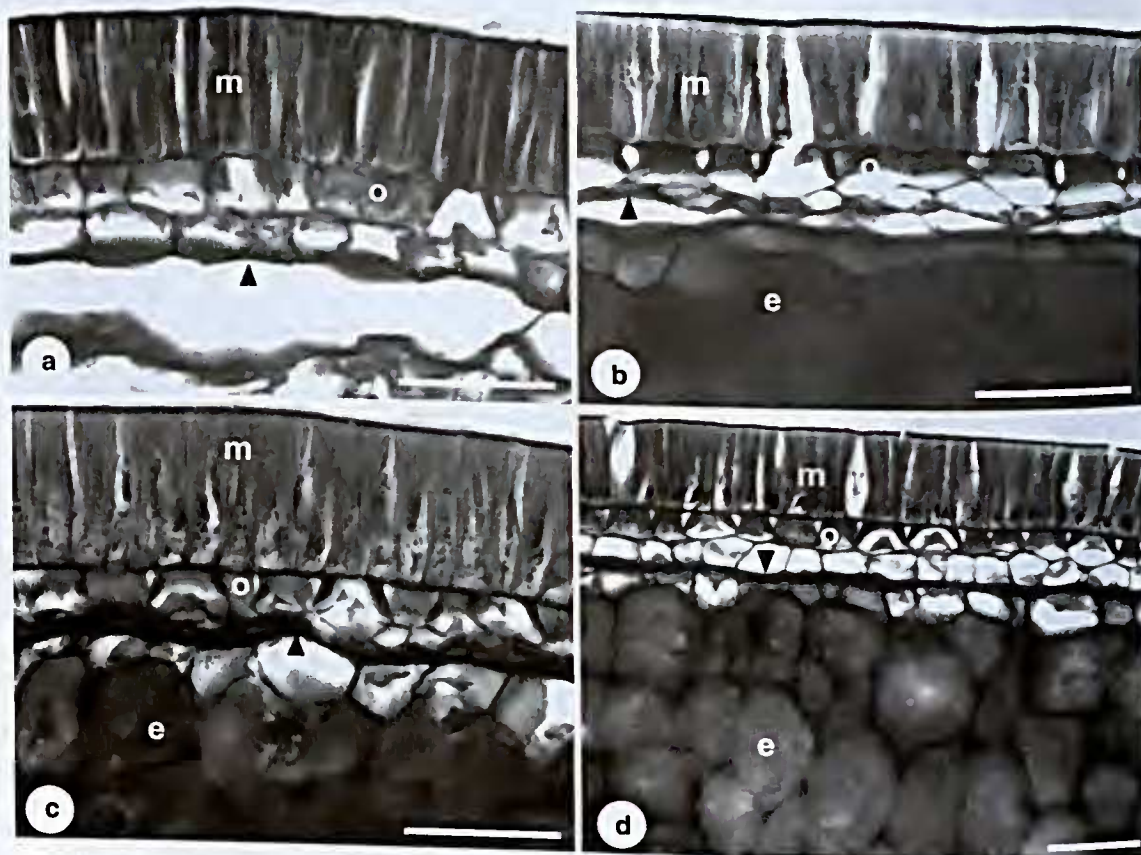


Figura 2 - Eletromicrografias (MEV) mostrando a forma e superfície do hilo de sementes de espécies de *Indigofera*. a. *I. asperifolia*. Hilo pequeno, ovado. Microescultura da superfície próxima ao hilo microrreticulada. b. *I. bongardiana*. Hilo pequeno, ovado. Microescultura da superfície próxima ao hilo microrreticulada. c. *I. campestris*. Hilo grande, circular. Microescultura da superfície próxima ao hilo macrorreticulada. d. *I. lespedezioides*. Hilo grande, ovado. Microescultura da superfície próxima ao hilo microrreticulada. e. *I. microcarpa*. Hilo pequeno, circular. Microescultura da superfície próxima ao hilo microrreticulada. f. *I. spicata*. Hilo grande, ovado. Microescultura da superfície próxima ao hilo macrorreticulada. Escalas = 50 µm.

Tabela 2 - Caracteres morfológicos diagnósticos observados na semente de espécies de *Indigofera*.

Espécies	Formato	Tamanho (mm) n=10	Hilo	Microescultura do envoltório	Osteoesclereídes (número de camadas)
<i>I. asperifolia</i>	rombóide (Fig. 1a)	1,47±0,07x 0,92±0,28	pequeno, ovado (Fig. 2a), escuro	microrreticulado (Fig. 2a)	2 (Fig. 3a)
<i>I. bongardiana</i>	cúbica (Fig. 1b)	1,5±0,0x 1,0±0,0	pequeno, ovado (Fig. 2b), claro	microrreticulado (Fig. 2b)	2
<i>I. campestris</i>	rombóide (Fig. 1c)	1,3±0,205x 1,0±0,0	grande, circular (Fig. 2c), claro	macrorreticulado (Fig. 2c)	2
<i>I. guaranítica</i>	cilíndrica (Fig. 1d)	1,79±0,21x 0,86±0,09	pequeno, circular, claro	microrreticulado	2 a 3 (Fig. 3b)
<i>I. lepedezioides</i>	rombóide (Fig. 1e)	2,05±0,15x 1,3±0,35	grande, ovado (Fig. 2d), escuro	microrreticulado (Fig. 2d)	2 (Fig. 3d) a 3
<i>I. microcarpa</i>	rombóide, cúbica	1,25±0,23x 1,07±0,04	pequeno, circular (Fig. 2e), escuro	microrreticulado (Fig. 2e)	2 (Fig. 3c)
<i>I. spicata</i>	rombóide (Fig. 1f)	1,49±0,13x 1,0±0,0	grande, ovado (Fig. 2f), claro	macrorreticulado (Fig. 2f)	2



Figuras 3 - Seções longitudinais do envoltório seminal de espécies de *Indigofera*. a. *I. asperifolia*. b. *I. guaranítica*. c. *I. microcarpa*. d. *I. lepedezioides*. Observe que a testa é constituída de macrosclereídes (m) e osteoesclereídes (o), e que as células do endosperma (e) apresentam conteúdo. Restos do tegumento interno aparecem na ponta das setas. Escalas = 32 µm.

DISCUSSÃO

A anatomia do envoltório das sementes não apresentou muitas diferenças entre as espécies, constituindo caracteres conservativos para o gênero e, mesmo dentro da família, sendo típica de espécies de Leguminosae, como descrito por Corner (1951) e revisto por Gunn (1981). Interessante notar que a testa das sementes não apresentou camadas de fibras, como outras espécies de Leguminosae (Gunn 1981, Teixeira *et al.* 2004). A participação exclusiva do tegumento externo na formação da testa, macroesclereídes com conteúdo fenólico, osteosclereídes constituindo a testa e a ausência de fibras são dados também obtidos em estudos do desenvolvimento do envoltório seminal de espécies asiáticas de *Indigofera* (Deshpande & Untawale 1971, Manning & von Staden 1987). Tais trabalhos são os únicos encontrados na literatura tratando de anatomia de sementes deste gênero.

A dormência tegumentar descrita por Cantliffe *et al.* (1980) e Carpanezzi & Fowler (1997) para as sementes de espécies de *Indigofera* deve-se provavelmente à presença de camadas de macroesclereídes e osteosclereídes na testa, principalmente na região hilar, que atuam como barreira à entrada de água e oxigênio para a germinação das sementes (Melo-Pinna *et al.* 1999, Ferreira & Borghetti 2004). Tal dormência pode ser quebrada após a imersão das sementes em água quente (Carpanezzi & Fowler 1997), o que, no cerrado, ambiente de ocorrência natural destas espécies, deve ocorrer após a elevação de temperatura ocasionada por queimadas periódicas típicas desta formação vegetacional. Seu rápido estabelecimento em áreas de pastagens pode ser ocasionado pelas queimadas da vegetação para a implantação e limpeza do pasto, e também pelo pequeno tamanho das sementes, que permite uma rápida dispersão (Plaza *et al.* 2004).

Dificuldades de identificação devido à semelhança morfológica de *I. campestris* e

I. spicata (Moreira & Tozzi 1997), por exemplo, podem ser solucionadas com o emprego da anatomia foliar (forma das células epidérmicas e venação última marginal - Barros, dados não publicados), e pelo tamanho e forma do hilo seminal (Tab. 2). Já *I. microcarpa* (ver em tabela 2 os materiais provenientes da Bahia e Rio Grande do Sul) e *I. sabulicola* (ver na tabela 2 os materiais provenientes do Mato Grosso e do Mato Grosso do Sul), sinonimizadas por Leon & Alain (1951), não puderam ser distinguidas pelos caracteres do envoltório seminal. Dados obtidos de trabalhos de anatomia foliar (Barros, dados não publicados), de distribuição e tipos de glândulas (Marquifável, dados não publicados), e do presente trabalho (forma e tamanho das sementes: cúbica e menor em *I. sabulicola*, rombóide e maior em *I. microcarpa*) indicam a necessidade de reavaliação da sinonimização destas espécies.

A combinação de caracteres provenientes da microescultura da superfície seminal, da forma e do tamanho do hilo e da semente, e do número de camadas de osteosclereídes na testa, permitiu a identificação de sementes das sete espécies de *Indigofera* estudadas neste trabalho (Tab. 2). A anatomia foliar destas espécies foi estudada e o tipo de mesófilo, a forma das células epidérmicas, a morfologia dos tricomas tectores e secretores, a presença de compostos fenólicos e idioblastos cristalíferos, o tipo de venação marginal e de desenvolvimento da aréola também constituíram caracteres diagnósticos (Barros, dados não publicados). Tais dados, adicionado ao fato de que variações morfológicas intra e inter-populacionais em uma espécie também não foram observadas, como esperado por autores que trabalharam com a taxonomia de espécies brasileiras (Eisinger 1987; Moreira & Tozzi 1997) e sul-americanas de *Indigofera* (White 1980), indicam que a anatomia é uma ferramenta bastante útil para a taxonomia do gênero.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP, processo nº 02/11834-5) pelo financiamento do trabalho, aos curadores dos herbários UEC, RB e HUEFS e a Dra. Valquíria de B. G. Alcântara (Instituto de Zootecnia de Nova Odessa, SP) por nos ceder as sementes utilizadas neste trabalho; ao Dr. Vidal de Freitas Mansano pelo auxílio na coleta de *I. spicata*, ao Dr. Osvaldo de Freitas (Laboratório de P & D Farmacotécnico, Departamento de Ciências Farmacêuticas, FCFRP/USP) pela utilização do fotomicroscópio; ao Dr. Elliot Watanabe Kitajima (Centro de Microscopia Eletrônica da ESALQ em Piracicaba/SP) e a Mário Sadaiti Ogasawara (Laboratório de Farmacobotânica - FCFRP/USP) pelo auxílio técnico.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aziz-S. & Khan-M-A. 1993. Survivorship patterns of some desert plants. *Pakistan Journal of Botany* 25: 67-72
- Benthams, G. 1859. Leguminosae: *Indigofera*. In: Martius, C. F. P. von; Eichler, A. W. & Urban, I. (eds.). *Flora brasiliensis*. Munchen, Wien, Leipzig, 15(1): 35-42.
- Burkart, A. 1942. Las especies de *Indigofera* de la Flora Argentina. *Darwiniana* 4: 145-178.
- Cantliffe, D. J.; Tang, A. C. & Guedes, A. C. 1980. Seed treatment of hairy indigo (*Indigofera hirsuta* L.) to overcome hard seed dormancy. *HortScience*. 15: 518-520.
- Carpanezzi, A. A. & Fowler, J. A. P. 1997. Tratamentos pré-germinativos para sementes de anileira. *Documentos Embrapa* 12: 1-3.
- Corner, E. J. H. 1951. The leguminous seed. *Phytomorphology* 1: 117-150.
- Deshpande, P. K. & Untawale, A. G. 1971. Development of seed and fruit in *Indigofera enneaphylla* L. *Botanical Gazette* 132: 96-102.
- Eisinger, S. M. 1987. O gênero *Indigofera* L. (Leguminosae - Papilionoideae - Indigofereae) no Rio Grande do Sul - Brasil. *Acta Botanica Brasilica* 1: 123-140.
- Ferreira, A. G. & Borghetti, F. 2004. Germinação: do básico ao aplicado. *Artmed*, Porto Alegre, 323p.
- Garcez, W. S.; Garcez, F. R.; Honda, N. K. & Silva, A. J. R. 1989. A nitropropanoylglucopyranoside from *Indigofera suffruticosa*. *Phytochemistry* 28: 1251-1252.
- Gerlach, D. 1969. *Botanische mikrotechnik*. Georg. Thieme Verlag, Stuttgart, 298p.
- Gunn, C. R. 1981. Seeds of Leguminosae. In: Polhill, R. M. & Raven, P. H. (eds.). *Advances in Legume Systematics*. Royal Botanic Gardens, Kew. 2: 913-925.
- Javadi, F. & Yamaguchi, H. 2004. RAPD and seed coat morphology variation in annual and perennial species of the genus *Cicer* L. *Genetic Resources and Crop Evolution* 51: 783-794.
- Johansen, D. A. 1940. *Plant microtechnique*. McGraw-Hill Book Company Inc, New York, 523p.
- Kamal, R. & Mangla, M. 1993. In vivo and in vitro investigations on rotenoids from *Indigofera tinctoria* and their bioefficacy against the larvae of *Anopheles stephensi* and adults of *Callosobruchus chinensis*. *Journal of Bioscience (Bangalore)* 18: 93-101.
- Kort, I. & Thijsse, G. 1984. A revision of the genus *Indigofera* (Leguminosae - Papilionoideae) in Southeast Asia. *Blumea* 30: 89-151.
- Lcon, H. & Alain, H. 1951. Dicotiledôneas: Casuarináceas a Meliáceas. *Flora de Cuba* 2:1-456.
- Lewis, G. P. 1987. *Legumes of Bahia*. Royal Botanic Gardens, Kew, 369p.
- Mairapetyan-S-KH; Vartanyan-M-K; Sarkisyan-E-D & Ovsepyan-A-A. 1986. Experience with cultivating *Indigofera* spp. under conditions of open gravel hydroponics. *Rastitel'Nye Resursy* 22: 352-357.
- Manning, J. C. & von Staden, J. 1987. The functional differentiation of the testa of *Indigofera parviflora* (Leguminosae, Papilionoideae). *Botanical Gazette* 148: 23-34.

- Melo-Pinna, G. F. A.; Neiva, M. S. M. & Barbosa, D. C. A. 1999. Estrutura do tegumento seminal de quatro espécies de Leguminosae (Caesalpinioideae), ocorrentes em uma área de caatinga (PE, Brasil). *Revista Brasileira de Botânica* 22: 375-379.
- Morreira, J. L. A. & Tozzi, A. M. G. A. 1997. *Indigofera* L. (Leguminosae, Papilionoideae) no estado de São Paulo, Brasil. *Revista Brasileira de Botânica* 20: 97-117.
- O'Brien, T. P. & McCully, M. E. 1981. The study of plant structure. Principles and selected methods. Termarcaphy Ltd., Melbourne, 317p.
- _____; Feder, N. & McCully, M. E. 1964. Polychromatic staining of plant cell walls by Toluidine Blue O. *Protoplasma* 59: 368-373.
- Plaza, L.; Fernández, I.; Ruan, R.; Pastor, J. & Pujadas, A. 2004. Micromorphological studies on seeds of *Orobanchae* species from the Iberian Peninsula and the Balearic Islands, and their systematic significance. *Annals of Botany* 94: 167-178.
- Polhill, R. M. 1981. Indigofereae. *In*: Polhill, R. M. & Raven, P. H. (eds.). Advances in legume systematics. Royal Botanic Gardens, Kew 1: 289-291.
- Sehrire, B. D. 2005. Indigofereae. *In*: Lewis, G.; Sehrire, B. D.; Mackinder, B. & Lock, M. (eds.). Legumes of the world. Royal Botanic Gardens, Kew. 361-365.
- Souza, M. A. D. M.; Bieber, L. W.; Chiappeta, A. A.; Maciel, G. M.; Mello, J. F. D.; Delle-Monache, F. & Messana, I. 1988. Arylbenzofurans from *Indigofera microcarpa*. *Phytochemistry* 27: 1817-1820.
- Teixeira, S. P.; Carmello-Guerreiro, S. M. & Machado, S. R. 2004. Fruit and seed ontogeny related to the seed behaviour of two tropical species of *Caesalpinia* (Leguminosae). *Botanical Journal of the Linnean Society* 146: 57-70.
- White, P. S. 1980. *Indigofera*. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 67: 706-714.
- Zeng, C.-L.; Wang, J.-B.; Liu, A.-H. & Wu, X.-M. 2004. Seed coat microsculpturing changes during seed development in diploid and amphidiploid *Brassica* species. *Annals of Botany* 93: 555-566.